

氏 名	立 石 悠
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学 位 記 番 号	第 6149 号
授 与 報 告 番 号	甲第 3469 号
学位授与年月日	平成 27 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学 位 論 文 名	<b>Myeloid HIF-1 Attenuates the Progression of Renal Fibrosis In Marine Obstructive Nephropathy</b> <b>(マウス閉塞性腎症においてマクロファージの Hypoxia-inducible factor (HIF)-1 は腎線維化に抑制的に働く)</b>
論文審査委員	主 査 平田 一人 教授                      副 査 吉川 貴仁 教授 副 査 金子 幸弘 教授

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目的】

低酸素において誘導される転写因子である Hypoxia-inducible factor (HIF)は腎線維化の進行に重要な役割を果たす事が知られている。腎臓に浸潤するマクロファージが腎線維化の進行に関与する事は知られているが、マクロファージの HIF-1 が果たす役割は明らかにされていない。本研究では、腎線維化の進行におけるマクロファージ HIF-1 の役割についての検討を行った。

### 【対象と方法】

マクロファージ特異的に HIF-1 をノックアウトしたマウス (LysM-Cre HIF-1flox/flox マウス : HIFKO 群) に進行性腎線維化モデルである片側尿管閉塞 (Unilateral ureteral obstruction: UUO) を行い、野生型 (WT 群) と比較した。

### 【結果】

UUO 術後 7 日目の腎組織では健常腎と比べ腎間質に著明な collagen III 沈着を伴う腎線維化病変が認められ、collagen I および III の遺伝子発現も著しく増加した。これらの変化は WT 群に比し HIFKO 群において有意に増強した。腎組織の免疫組織化学染色および腎単離細胞を用いた F4/80 陽性細胞のフローサイトメトリー解析では、UUO により時間依存的に腎浸潤マクロファージ数の増加を認めたが、WT 群と HIFKO 群でその程度に差を認めなかった。また Periodic acid-Schiff 染色を用いた半定量法で腎組織障害を評価したところ、UUO により組織障害の有意な増悪を認めたが、WT 群と HIFKO 群でその程度に差を認めなかった。線維化促進作用を有する connective tissue growth factor (CTGF) の遺伝子発現および蛋白発現は UUO により増加し、これらの変化はマクロファージの HIF-1 欠損によって有意に増強した。一方、TGF- $\beta$ 1 の遺伝子発現は UUO により増加したが両群で差を認めなかった。免疫磁気ビーズ法により UUO 腎の腎単離細胞を分類し遺伝子発現を調べたところ、UUO 腎での CTGF mRNA 発現はそのほとんどがマクロファージ以外の腎細胞に由来する事が明らかとなった。

### 【結論】

マクロファージの HIF-1 はマウスの UUO モデルにおいて腎線維化の進行に抑制的に働く。この機序の一つとして、マクロファージ以外の腎細胞の CTGF 発現の変化が関与している可能性が考えられた。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

腎組織は低酸素環境にあり、腎障害の進行に伴いその程度は増悪する。低酸素により誘導される転写因子である Hypoxia-inducible factor (HIF)は、腎線維化の進行に重要な役割を果たす事が知られている。腎臓に浸潤するマクロファージが腎線維化の進行に関与する事は知られているが、マクロファージの HIF-1 が果たす役割は明らかにされていない。本研究は、腎線維化の進行におけるマクロファージ HIF-1 の役割を明らかにすることを目的としたものである。

実験にはマクロファージ特異的に HIF-1 をノックアウトした LysM-Cre HIF-1<sup>flox/flox</sup> マウスを用い、野生型と比較した。これらのマウスに進行性腎線維化モデルである片側尿管閉塞を行い、腎線維化の

評価を行った。尿管閉塞により腎線維化が有意に増加し、その程度はマクロファージの **HIF-1** 欠損によりさらに有意な増強を示した。腎間質に浸潤するマクロファージ数を検討したところ、尿管閉塞により経時的な増加を示したが、その程度は両群間で差を認めなかった。尿管閉塞による尿細管上皮細胞の障害も両群間でその程度に差を認めなかった。線維化促進作用を有する **Connective tissue growth factor (CTGF)** の腎臓における遺伝子発現および蛋白発現は尿管閉塞により有意に増加し、その程度はマクロファージの **HIF-1** 欠損によってさらに有意な亢進を認め、この **CTGF** の増加がマクロファージの **HIF-1** 欠損による腎線維化亢進の一因となっている可能性を示した。一方 **TGF- $\beta$**  の腎での遺伝子発現は尿管閉塞により有意に増加したが、両群間で差を認めなかった。また、尿管閉塞腎から腎単離細胞を調整し、**CTGF** の遺伝子発現解析を行ったところ、**CTGF** の遺伝子発現はそのほとんどがマクロファージ以外の細胞に由来していた。

以上の結果から、マクロファージの **HIF-1** はマウス閉塞性腎症における腎線維化の進行に抑制的に働く事が明らかとなった。またこの機序の一つとして、マクロファージ以外の腎細胞に由来する **CTGF** 発現の変化が関与している可能性が示唆された。

本研究は、マクロファージ **HIF-1** の腎線維化の進行に果たす役割を明らかにしたものであり、進行性腎障害における **HIF** を標的とした治療戦略を考える上で寄与するところ大である。よって本研究は博士（医学）の学位を授与されるに値するものと判定した。